



①⑨ BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENT- UND
MARKENAMT

⑫ **Offenlegungsschrift**
⑩ **DE 100 05 600 A 1**

⑤① Int. Cl.⁷:
B 01 L 9/02

②① Aktenzeichen: 100 05 600.8
②② Anmeldetag: 9. 2. 2000
④③ Offenlegungstag: 16. 8. 2001

⑦① Anmelder:
Bayer AG, 51373 Leverkusen, DE

⑦② Erfinder:
Reihs, Karsten, Dr., 50679 Köln, DE; Paffhausen,
Wolfgang, Dr., 51381 Leverkusen, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

- ⑤④ Ultraphobes Flächengebilde mit einer Vielzahl von hydrophilen Bereichen
- ⑤⑦ Es wird ein Flächengebilde mit einer ultraphoben Oberfläche, insbesondere eine Mikrotiterplatte, und ein Verfahren zu ihrer Herstellung beschrieben, das mit einer Vielzahl von hydrophilen Bereichen strukturiert ist, die vorzugsweise periodisch auf der Oberfläche verteilt sind.

DE 100 05 600 A 1

DE 100 05 600 A 1

Die Erfindung betrifft ein Flächengebilde mit einer ultraphoben Oberfläche, insbesondere eine Mikrotiterplatte, und ein Verfahren zu ihrer Herstellung, das mit einer Vielzahl von hydrophilen Bereichen strukturiert ist, die vorzugsweise periodisch auf der Oberfläche verteilt sind. Die Erfindung betrifft außerdem die Verwendung des Flächengebildes als Mikrotiterplatte oder Druckplatte.

Im Bereich der Wirkstoffchemie aber auch der Biologie müssen heutzutage zunehmend Serienversuche durchgeführt werden. Dabei wird eine große Anzahl kleinster, flüssiger Testvolumina z. B. mit unterschiedlichen Wirkstoffen versetzt, um die Reaktion der Flüssigkeit auf den jeweiligen Wirkstoff zu testen.

Solche Versuche werden auf sogenannten Mikrotiterplatten durchgeführt. Mikrotiterplatten sind Platten, die in regelmäßigen Abständen z. B. 2 mm eine Vielzahl kleiner Vertiefungen aufweisen, in die die Flüssigkeit eingebracht wird. Solche Mikrotiterplatten werden durch Extrusion oder mit Spritzguß hergestellt. Diese Verfahren sind jedoch teuer und haben einen hohen Ausschuß. Da es sich bei Mikrotiterplatten um Einmalartikel handelt, fällt derzeit auch noch vergleichsweise viel Abfall an, der entsorgt werden muß.

Es stellt sich deshalb die Aufgabe eine Mikrotiterplatte zur Verfügung zu stellen, die die genannten Nachteile nicht aufweist und bei deren Herstellung weniger Abfall entsteht.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß durch die Bereitstellung eines Flächengebildes gelöst, das zugleich ultrahydrophobe und gezielt hydrophile Bereiche aufweist.

Gegenstand der Erfindung ist ein Flächengebilde, insbesondere eine Platte, besonders bevorzugt eine Mikrotiterplatte, aufweisend eine Oberfläche mit ultraphoben Eigenschaften, dadurch gekennzeichnet, dass das Flächengebilde mit einer Vielzahl von hydrophilen Bereichen strukturiert ist.

Ein solches Flächengebilde kann ein Teil eines beliebigen Formkörpers sein. Vorzugsweise ist das Flächengebilde jedoch eine insbesondere ebene Platte.

Hydrophile Bereiche im Sinne der Erfindung sind Bereiche auf denen ein Wassertropfen mit einer Größe von 10 µl einen Randwinkel < 90° einnimmt und der Abrollwinkel des Wassertropfens mit dem oben genannten Volumen 10° überschreitet.

Ultrahydrophobe Bereiche im Sinne der Erfindung zeichnen sich dadurch aus, dass sie eine ultrahydrophobe Oberfläche haben, auf der der Kontaktwinkel eines Tropfens einer Flüssigkeit, der auf der Oberfläche liegt deutlich mehr als 120°C, in guten Fällen nahe 180° beträgt und der Abrollwinkel 10° nicht überschreitet.

Vorteilhafterweise sind die hydrophilen Bereiche auf der Oberfläche so angeordnet, daß sie von den ultrahydrophoben Bereichen umschlossen werden.

Ebenfalls bevorzugt stellen die hydrophilen Bereiche nur einen kleinen Teil der gesamten Oberfläche dar.

Vorteilhafterweise werden die hydrophilen Bereiche auf der Oberfläche gleichmäßig angeordnet, so daß sich ein gewisses Muster ergibt.

Bevorzugt ist ein Flächengebilde, bei dem die hydrophilen Bereiche teilweise oder insgesamt periodisch auf der Oberfläche verteilt sind.

Besonders bevorzugt haben die periodisch auf der Oberfläche verteilten hydrophilen Bereiche die gleiche Flächenform.

Die Flächenform der einzelnen hydrophilen Bereiche ist in einer insbesondere bevorzugten Ausführung rechteckig oder kreisrund.

Die Flächengröße der einzelnen hydrophilen Bereiche be-

trägt dabei besonders bevorzugt von 1 nm² bis 1 µm².

Die hydrophilen Bereiche sind teilweise oder insgesamt bevorzugt so auf der Oberfläche des Flächengebildes verteilt, dass sie ein Bild- und/oder Zeichenmuster bilden.

Geeignete bekannte ultrahydrophobe Oberflächen sind z. B. in den Schriften WO 98/23549, WO 96/04123, WO 96/21523 und WO 96/34697 offenbart, die hiermit als Referenz eingeführt werden und somit als Teil der Offenbarung gelten.

In einer bevorzugten Ausführungsform weist die ultraphobe Oberfläche eine Oberflächentopographie auf, bei der der Wert des Integrales der Funktion $S(\log f) = a(f) \cdot f$ die einen Zusammenhang zwischen Ortsfrequenzen der einzelnen Fourierkomponenten und deren Amplituden $a(f)$ gibt, zwischen den Integrationsgrenzen $\log(f_1/\mu\text{m}^{-1}) = -3$ und $\log(f_2/\mu\text{m}^{-1}) = 3$, mindestens 0,5, insbesondere mindestens 0,6 beträgt und aus einem ultraphoben Material oder aus einem haltbar ultraphobierten Material besteht. Eine solche ultraphobe Oberfläche wird in der unveröffentlichten deutschen Patentanmeldung mit dem Aktenzeichen 198 60 136.0 beschrieben.

In einer bevorzugten Variante ist die ultraphobe Oberfläche des Flächengebildes, eine Aluminium-Oberfläche, die gegebenenfalls anodisch oxidiert, mit heißem Wasser oder Wasserdampf behandelt, gegebenenfalls mit einer Haftvermittlerschicht beschichtet und anschließend mit einem hydrophoben Beschichtungsmittel versehen wird, so wie es in der unveröffentlichten deutschen Patentanmeldung mit dem Aktenzeichen 198 60 138.7 beschrieben ist.

Das Flächengebilde kann hierbei insbesondere insgesamt aus Aluminium gefertigt sein oder weist vorzugsweise einen Aluminium-Auskleidung auf, wobei die Oberfläche des Aluminiums, wie oben angegeben behandelt wird.

In einer weiteren bevorzugten Variante des erfindungsgemäßen Flächengebildes ist die ultraphobe Oberfläche, eine Oberfläche, die mit Ni(OH)₂-Partikeln beschichtet, gegebenenfalls mit einem Haftvermittler überzogen und anschließend mit einem hydrophoben Beschichtungsmittel versehen ist, so wie es in der unveröffentlichten deutschen Patentanmeldung mit dem Aktenzeichen 198 60 139.5 beschrieben ist.

Vorzugsweise haben die Ni(OH)₂-Partikel einen Durchmesser d₅₀ von 0,5 bis 20 µm.

In einer weiteren vorteilhaften Anwendungsform der Erfindung ist die ultraphobe Oberfläche aus Wolframcarbid aufgebaut, das mit einem Laser strukturiert, gegebenenfalls mit einem Haftvermittler beschichtet und anschließend mit einem hydrophoben Beschichtungsmittel versehen wird, so wie es in der unveröffentlichten deutschen Patentanmeldung mit dem Aktenzeichen 198 60 135.2 beschrieben ist.

Vorzugsweise wird das Flächengebilde nur mit Wolframcarbid beschichtet, das dann wie oben angegeben behandelt wird. Besonders bevorzugt hat die Wolframcarbidschicht eine Schichtdicke von 10 bis 500 µm.

In einer weiteren Variante kann die ultraphobe Oberfläche des Flächengebildes dadurch erzeugt werden, daß die Oberfläche des Flächengebildes mit einem Strahlmittel gesandstrahlt, gegebenenfalls mit einer Haftvermittlerschicht beschichtet und anschließend mit einem hydrophoben Beschichtungsmittel versehen, wie es in der unveröffentlichten deutschen Patentanmeldung mit dem Aktenzeichen 198 60 140.9 beschrieben ist.

Als ultrahydrophober oder oleophober Überzug eignen sich alle grenzflächenaktiven Hydrophobierungsmittel mit beliebigen Molmassen.

Als Hydrophobierungsmittel eignen sich alle grenzflächenaktiven Substanzen mit beliebigen Molmassen. Bei diesen Verbindungen handelt es sich bevorzugt um kationische,

anionische, amphotere oder nichtionische grenzflächenaktive Verbindungen, wie sie z. B. im Verzeichnis "Surfactants Europa, A Dictionary of Surface Active Agents available in Europe, Edited by Gordon L. Hollis, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1995 aufgeführt werden.

Als anionische Hydrophobierungsmittel sind beispielsweise zu nennen: Alkylsulfate, Ethersulfate, Ethercarboxylate, Phosphatester, Sulfosuccinate, Sulfosuccinamide, Paraffinsulfonate, Olefinsulfonate, Sarcosinate, Isothionate, Taurate und Lingninsische Verbindungen.

Als kationische Hydrophobierungsmittel sind beispielsweise quarternäre Alkylammoniumverbindungen und Imidazole zu nennen.

Amphotere Hydrophobierungsmittel sind zum Beispiel Betaine, Glycinate, Propionate und Imidazole.

Nichtionische Hydrophobierungsmittel sind beispielsweise: Alkoxyate, Alkylamide, Ester, Aminoxide und Alkypolyglykoside. Weiterhin kommen in Frage: Umsetzungsprodukte von Alkylenoxiden mit alkylierbaren Verbindungen, wie z. B. Fettalkoholen, Fettaminen, Fettsäuren, Phenolen, Alkylphenolen, Arylalkylphenolen, wie Styrol-Phenol-Kondensate, Carbonsäureamiden und Harzsäuren.

Besonders bevorzugt sind Hydrophobierungsmittel bei denen 1 bis 100%, besonders bevorzugt 60 bis 95% der Wasserstoffatome durch Fluoratome substituiert sind. Beispielsweise seien perfluorierte Alkylsulfat, perfluorierte Alkylsulfonate, perfluorierte Alkylphosphate, perfluorierte Alkylphosphinate und perfluorierte Carbonsäuren genannt.

Bevorzugt werden als polymere Hydrophobierungsmittel zur hydrophogen Beschichtung oder als polymeres hydrophobes Material für die Oberfläche Verbindungen mit einer Molmasse $M_w > 500$ bis 1.000.000, bevorzugt 1.000 bis 500.000 und besonders bevorzugt 1.500 bis 20.000 eingesetzt. Diese polymeren Hydrophobierungsmittel können nichtionische, anionische, kationische oder amphotere Verbindungen sein. Ferner können diese polymeren Hydrophobierungsmittel Homo- und Copolymerisate, Pfröpf und Pfröpfcopolymerisate sowie statistische Blockpolymere sein.

Besonders bevorzugte polymere Hydrophobierungsmittel sind solche vom Typ AB-, BAB- und ABC-Blockpolymere. In den AB- oder BAB-Blockpolymeren ist das A-Segment ein hydrophiles Homopolymer oder Copolymer, und der B-Block ein hydrophobes Homopolymer oder Copolymer oder ein Salz davon.

Besonders bevorzugt sind auch anionische, polymere Hydrophobierungsmittel, insbesondere Kondensationsprodukte von aromatischen Sulfonsäuren mit Formaldehyd und Alkyl-naphthalinsulfonsäuren oder aus Formaldehyd, Naphthalinsulfonsäuren und/oder Benzolsulfonsäuren, Kondensationsprodukte aus gegebenenfalls substituiertem Phenol mit Formaldehyd und Natriumbisulfit.

Weiterhin bevorzugt sind Kondensationsprodukte, die durch Umsetzung von Naphtholen mit Alkanolen, Anlagerungen von Alkylenoxid und mindestens teilweiser Überführung der terminalen Hydroxygruppen in Sulfogruppen oder Halbester der Maleinsäure und Phthalsäure oder Bernsteinsäure erhältlich sind.

In einer anderen bevorzugten Ausführung ist das Hydrophobierungsmittel aus der Gruppe der Sulfobernsteinsäureester sowie Alkylbenzolsulfonate. Weiterhin bevorzugt sind sulfatierte, alkoxylierte Fettsäuren oder deren Salze. Als alkoxylierte Fettsäurealkohole werden insbesondere solche mit 5 bis 120, mit 6 bis 60, ganz besonders bevorzugt mit 7 bis 30 Ethylenoxideinheiten versehene C_6 - C_{22} -Fettsäurealkohole, die gesättigt oder ungesättigt sind, insbesondere Stearylalkohol, verstanden. Die sulfatierten alkoxylierten Fettsäurealkohole liegen vorzugsweise als Salz, insbeson-

dere als Alkali- oder Aminsalze, vorzugsweise als Diethylaminsalz vor.

Die erfindungsgemäßen Oberflächen werden vorteilhafter Weise dadurch hergestellt, daß ein Flächengebilde mit ultraphober Oberfläche lokal an den Stellen, an denen die Oberfläche hydrophil sein soll, zerstört und hydrophiliert wird.

Die erfindungsgemäße Oberfläche läßt sich in allen Bereichen einsetzen, in denen es gewünscht wird, daß Wasser oder wasserhaltige Substanzen eine Oberfläche nur teilweise benetzt. Besonders vorteilhaft läßt sich das Flächengebilde als Druckplatte oder Mikrotiterplatte einsetzen.

Wird das Flächengebilde als Druckplatte verwendet, wird die ultrahydrophobe Schicht der Oberfläche in den Bereichen, in denen die Druckfarbe anhaften soll, gezielt zerstört und hydrophiliert.

Wird die Oberfläche als Mikrotiterplatte verwendet, wird die ultrahydrophobe Schicht an einer Vielzahl von Stellen zerstört. Diese Stellen haben z. B. eine Fläche in der Größenordnung vom 1 nm^2 – $1 \text{ }\mu\text{m}^2$ und sind, bevorzugt in regelmäßigen Abständen von einigen mm zueinander angeordnet.

Eine solche Mikrotiterplatte weist folgende Vorteile auf:

- Das Volumen der Wassertropfen kann durch Messung des Durchmessers der kugelförmigen Tropfen leicht kontrolliert werden.
- Die Herstellung der Mikrotiterplatte ist einfacher als beim Stand der Technik. Im vorliegenden Beispiel kann die Laserstrukturierung auch sehr einfach in den Dosierautomaten integriert werden.
- Die Mikrotiterplatten können in Form einfacher Folien verkauft werden, die vom Kunden in einem entsprechenden Raster und einer entsprechenden Feldgröße flexibel verwendet werden können.
- Die Testvolumina sind frei zugängliche Tropfen, die mit Detektionsgeräten einfacher angefahren und abgelesen werden können.
- Die Tropfenvolumina können leicht in den Bereich von 1 nl reduziert werden. Dadurch kann die Flächendichte der Testvolumina gegenüber den gebräuchlichen Mikrotiterplatten deutlich erhöht werden können.
- Der Materialaufwand zur Herstellung einer Mikrotiterplatte ist geringer als beim Stand der Technik. Es fällt nach Gebrauch dieses Einmalartikels weniger Müll an.

Das erfindungsgemäße Flächengebilde ist einfach und kostengünstig herzustellen. Es kann z. B. als Folie hergestellt und auf beliebige Formkörper als Substrat geklebt werden. Die Folie kann demnach als Mikrotiterplatte verkauft werden, wobei nach deren Gebrauch nur die Folie und nicht der gesamte Formkörper, auf dem sie aufgebracht wurde, entsorgt werden muß.

Weiterer Erfindungsgegenstand ist die Verwendung des erfindungsgemäßen Flächengebildes als Druckplatte insbesondere für den Schwarz-Weißdruck oder Mehrfarbendruck.

Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung erfindungsgemäßen Flächengebildes als Mikrotiterplatte.

Weiterer Erfindungsgegenstand ist ein Verfahren zur Herstellung eines erfindungsgemäßen Flächengebildes, durch gezieltes Entfernen einer ultraphoben Oberflächenschicht auf einem hydrophilen Substrat, an den Stellen, die hydrophile Bereiche bilden sollen, insbesondere durch mechanische oder chemische Abtragung, Bestrahlung oder gegebenenfalls Ablation der Oberfläche, insbesondere mittels Laserstrahlung geeigneter Intensität.

Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren können die hydrophilen Bereiche auf einer Mikrotiterplatte sehr klein ge-

halten und sehr exakt positioniert werden, so daß die Flächendichte der Testvolumina im Vergleich zu Mikrotiterplatten gemäß dem Stand der Technik erheblich reduziert werden kann.

Die Erfindung wird nachfolgend durch die Beispiele, welche jedoch keine Beschränkung der Erfindung darstellen, weiter erläutert.

Beispiel 1

Zur Beschichtung einer Platte aus Aluminium wurde zunächst ein epoxyfunktionelles Harz (KBD7142) hergestellt. Dafür wurde eine Mischung aus

30 g Glycidylmethacrylat

70 g PFMA ($[\text{C}_9\text{F}_{19}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CO}-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}_2]$)

1 g AIBN (Azobisisobutyronitril) und

100 g MIBK (Methylisobutylketon)

über einen Zeitraum von 2 h bei 90°C in einen Kolben getropft und 16 h nachgerührt. Danach wurden 50 g 1,1,2-Trichlortrifluorethan hinzugegeben.

Sodann wurde die KBD 7142 1 : 50 in MIBK (Methylisobutylketon, 100 ml) gelöst und 1 g feinteiliges SiO_2 Typ Aerosil R 812 (Hersteller Degussa, Hanau) hinzugefügt.

Ein $150 \times 150 \text{ mm}^2$ großes Substrat aus Aluminium wurde mit dieser Lösung besprüht.

Die Schichtdicke betrug 50 µm. Anschließend wurde die Platte 12 h bei Raumtemperatur abgelüftet.

Der Randwinkel eines Wassertropfens, der auf dieser Oberfläche liegt, beträgt 174°, der Abrollwinkel eines Wassertropfens mit einem Volumen von 10 µl ist < 5°.

Die ultrahydrophobe Beschichtung der Al-Testplatte wurde sodann partiell mittels Laserablation abgetragen, um die Testplatte als Mikrotiterplatte zu verwenden.

Dazu wurde ein mit einer Linse der Brennweite $f = 100 \text{ mm}$ fokussierter Strahl eines Eximer-Lasers bei der Wellenlänge von 248 nm mit einer Leistungsflächendichte von 0.5 J/cm^{-2} eingesetzt.

In die Platte wurden $64 \times 64 = 4096$ Bereiche der Größe von $20 \times 20 \text{ µm}^2$ im Abstand von je 2 mm auf einer Gesamtfläche von $126 \times 126 \text{ mm}^2$ mit dem Laser bestrahlt. Anschließend wurden an jeder der bestrahlten Flächen Wassertropfen des Volumens von 500 nl mit Hilfe einer Pipette positioniert. Der Durchmesser der Wassertropfens beträgt ca. 1 mm. Die Positionierung der Tropfen wurde mit Hilfe eines Dosierautomaten mit automatisierter xy-Positionierung durchgeführt. Die Tropfen sind vibrationsstabil an den hydrophilen Bereichen fixiert und dienen als Probenvolumina der Mikrotiterplatten zur Durchführung von Probenreaktionen. Eine seitliche Begrenzung der Volumina in Form von Gefäßwänden entfällt, da die kugelförmige Krümmung der Tropfen das Volumen stabil hält. Der kleine hydrophile Defekt der Oberfläche (hier $5 \times 5 \text{ µm}^2$) fixiert den Tropfen an der gewünschten Position.

Die Tropfen wurden z. B. zur Durchführung einer Farbreaktion verwendet werden. Die Farbreaktion kann entweder qualitativ ausgelesen werden (z. B. Farbumschlag) oder man kann wie in gebräuchlichen Testplatten auch eine quantitative Konzentrationsbestimmung durch eine Absorptionsmessung durchführen.

Patentansprüche

1. Flächengebilde, insbesondere Platte, besonders bevorzugt Mikrotiterplatte, aufweisend eine Oberfläche mit ultraphoben Eigenschaften, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Flächengebilde mit einer Vielzahl von hydrophilen Bereichen strukturiert ist.
2. Flächengebilde nach Anspruch 1, dadurch gekenn-

zeichnet, daß die hydrophilen Bereiche teilweise oder insgesamt periodisch auf der Oberfläche verteilt sind.

3. Flächengebilde nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die periodisch auf der Oberfläche verteilten hydrophilen Bereiche die gleiche Flächenform haben.

4. Flächengebilde nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Flächenform der einzelnen hydrophilen Bereiche rechteckig oder kreisrund ist.

5. Flächengebilde nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Flächengröße der einzelnen hydrophilen Bereiche von 1 nm^2 bis 1 µm^2 beträgt.

6. Flächengebilde nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die hydrophilen Bereiche teilweise oder insgesamt so auf der Oberfläche verteilt sind, daß sie ein Bild- und/oder Zeichenmuster bilden.

7. Verwendung des Flächengebildes nach einem der Ansprüche 1 bis 6 als Druckplatte insbesondere für den Schwarz-Weißdruck oder Mehrfarbendruck.

8. Verwendung des Flächengebildes nach einem der Ansprüche 1 bis 6 als Mikrotiterplatte.

9. Verfahren zur Herstellung eines Flächengebildes nach einem der Ansprüche 1 bis 5, durch gezieltes Entfernen einer ultraphoben Oberflächenschicht auf einem hydrophilen Substrat, an den Stellen die hydrophile Bereiche bilden, insbesondere durch mechanische oder chemische Abtragung, Bestrahlung oder ggf. Ablation der Oberfläche, insbesondere mittels Laserstrahlung geeigneter Intensität.